

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



EP 00/3758

REC'D 30 MAY 2000	
WIPO	PCT

EJU

Bescheinigung

Die Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien in Düsseldorf/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Neue Salicylalkohol-Derivate"

am 28. Mai 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht und erklärt, dass sie dafür die Innere Priorität der Anmeldung in der Bundesrepublik Deutschland vom 5. Mai 1999, Aktenzeichen 199 20 558.2, in Anspruch nimmt.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole C 07 H, C 12 P und A 61 K der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 1. Februar 2000

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Werner

Aktenzeichen: 199 24 688.2



Patentanmeldung

H 4148

Neue Salicylalkohol-Derivate

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Salicylalkohol-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen.

Viele natürlich vorkommende Alkyl- und Phenol-Glucoside zeigen antivirale, antimikrobielle und teilweise antiinflammatorische Wirkungen (S. Matsamura, K. Imai, K. Kawada und T. Uchibori, Surface activities, biodegradability, and antimicrobial properties of n-alkyl-glucosides, mannosides and galactosides, J. Am. Oil Chem. Soc. 67, 996-1001 (1990); T. Hedner und B. Everts, The early clinical history of salicylates in rheumatology and pain, Clin. Rheumatol. 12, 17-25 (1998)). Vor allem die wäßrigen Extrakte der Weidenrinde (*Salix alba*, *pupurea* oder *fragilis*) und der Pappel sind bekannt für entzündungshemmende Effekte. Daher werden entsprechende Extrakte in Heiltees, aber auch in Kosmetikprodukten, z.B. zur Verringerung von Hautreizungen, eingesetzt, wie in der Anmeldung DE 196 15 577 beschrieben. Als wichtige Inhaltsstoffe der Rinde von Weiden gelten Salicin und Salicylsäure (o-Hydroxybenzoesäure), des weiteren sind Salicortin (2-[[[(1-Hydroxy-6-oxo-2-cyclohexen-1-yl)carbonyl]oxy]methyl]phenyl-β-D-glucopyranosid), Fragilin (Acetyl-salicin) und in der Rinde von Pappeln weiterhin Populin (Benzoyl-Salicin) enthalten. Hauptsächlich die Salicylsäure und ihre Derivate wie Acetylsalicylsäure wurden sehr genau auf antiinflammatorische Wirkung hin untersucht: Als nichtsteroidale antiinflammatorische Wirkstoffe (englisch non-steroidal antiinflammatory drugs, NSAID) inhibieren sie die Prostaglandinsynthese (J. R. Vane, Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of the aspirin-like drugs. Nature, 231, 232-235 (1971)).

Prostaglandine werden als Reaktion auf diverse exogene, zellspezifische Stimuli hin durch von den Enzymen Prostaglandin-Synthase-1 und -2 (PGHS-1 und -2) katalysierte Dioxygenierung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere Arachidonsäure, gebildet. Als autokrine und parakrine Gewebshormone werden sie verstärkt bei Verletzungen, Hautreizungen, Wundheilungsprozessen und inflammatorischen Reaktionen gebildet.

Normale Epidermis enthält bereits signifikante Mengen von Prostaglandinen, die offensichtlich durch PGHS-1 gebildet werden, da PGHS-2 nicht exprimiert ist. In gereizter Haut bewirken Prostaglandine (vor allem PGE₂ und PGF_{2 γ} aus den Keratinocyten) als lokale Entzündungsmediatoren sowohl die Dilatation (Erweiterung) als auch eine verstärkte Permeabilität von Blutgefäßen und sind dadurch an der Entstehung der für Entzündungsreaktionen typischen Rötung, Erwärmung und Schwellung der Haut (G. Fürstenberger, Role of eicosanoids in mammalian skin epidermis. Cell. Biol. Rev. 24, 1-90 (1990); G. Fürstenberger, V. Kinzel, M. Schwarz und F. Marks, Partial inversion of the initiation-promotion sequence of multistage tumorigenesis in the skin NMRI mice; Science 230, 76-78 (1985)), aber auch an der Ausbildung einer regenerativen epidermalen Hyperplasie beteiligt. Inhibitoren der Prostaglandin-Synthese können diese unerwünschten Effekte verhindern.

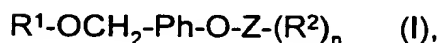
Neben den eingangs erwähnten, in Weiden und Pappeln vorkommenden Salicin-Derivaten ist aus der Literatur die Gewinnung von Benzoyl-Salicin aus Pflanzen (L. van Hoof et al., Plant viral agents, VI. Isolation of antiviral phenolic glucosides from *Populus cultivar Beaupre* by droplet counter-current chromatography, J. Nat. Prod. 52, 875-878 (1989)) sowie die enzymatische Herstellung von Phenylbutyryl-Salicin bekannt (R. T. Otto, U. T. Bornscheuer, C. Syldatk und R. D. Schmid, Lipase-catalyzed synthesis of arylaliphatic esters of D(+)-glucose, alkyl- and aryl-glucosides and characterization of their surfactant properties, J. Biotechnol. 64, 231-237 (1998)).

Obwohl in der Literatur bereits zahlreiche pharmakologisch wirksame Stoffe beschrieben sind, die beispielsweise in die Entzündungskaskade eingreifen, besteht weiterhin ein Bedarf nach besser wirksamen, an Nebenwirkungen armen Wirkstoffen. Weiter besteht ein Bedarf an Wirkstoffen mit einer guten

Resorbierbarkeit und einer schnellen Penetration in die Haut, die zudem gut in pharmazeutische oder kosmetische Formulierungen einarbeitbar sein müssen.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß bestimmte Salicylalkoholderivate, die von ihrer chemischen Struktur her als dem Salicin verwandte Verbindungen aufgefaßt werden können, für die Verwendung in Kosmetik und Pharmazie nützliche pharmakologische Wirkungen, wie z. B. antiinflammatorische, antipyretische, antiphlogistische und/oder analgetische Wirkungen zeigen und die vorher beschriebenen Nachteile des Stands der Technik nicht bzw. nur in geringerem Ausmaß zeigen.

Gegenstand der Erfindung sind Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I)



Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende kosmetische oder pharmazeutische Zubereitungen.

Die Verbindungen weisen wertvolle pharmakologische Eigenschaften auf, wie z. B. eine inhibierende Wirkung auf die Prostaglandinsynthese.

In der allgemeinen Formel (I) stehen

R^1 für ein Wasserstoffatom oder einen Rest $C(O)R^3$,
wobei R^3 einen Alkyl-, Cycloalkyl-, Cycloalkylalkyl-, Aralkyl-, oder Arylrest mit 1 bis 26 C-Atomen und/oder 1-10 Heteroatomen, der unverzweigt oder verzweigt, einfach oder mehrfach ungesättigt sein und/oder Substituenten am Kohlenstoffgerüst und/oder den Heteroatomen tragen kann, bedeutet,

Ph für den 1,2-Phenylrest,

Z für einen an den aromatischen Rest Ph in (I) halbacetalisch gebundenen, gegebenenfalls n-fach mit R^2 esterartig substituierten Zucker, wobei der Zucker ein Mono-, Di-, Oligo- oder Polysaccharid sein kann,

n für eine ganze Zahl zwischen 0 und m, wobei m gleich der Anzahl der im halbacetalisch an den aromatischen Rest gebundenen Zucker Z vorhandenen freien Hydroxylgruppen ist,

R^2 für ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe $C(O)R^4$, wobei R^4 aus der gleichen Gruppe ausgewählt ist wie R^3 , und wobei R^1 und R^2 gleich oder verschieden sein können mit der Maßgabe, daß höchstens einer der beiden Reste R^1 oder R^2 Wasserstoff bedeutet, wenn $Z = \text{Glucose}$ ist,

und mit den Einschränkungen,

daß im Falle, daß Z Glucose und R^2 Wasserstoff bedeuten, der Rest R^1 weder Acetyl noch Benzoyl noch (1-Hydroxy-6-oxo-2-cyclohexen-1-yl)carbonyl bedeuten kann,

und im Falle, daß R^1 Wasserstoff, Z Glucose und $n = 1$ bedeuten und der Glucoserest an seiner primären Hydroxygruppe mit R^2 substituiert ist, der Rest R^2 nicht 4-Phenyl-butyryl bedeuten kann.

Vorzugsweise ist für den Fall, daß R^1 Wasserstoff, Z Glucose und $n = 1$ bedeuten und der Glucoserest an seiner primären Hydroxygruppe mit R^2 substituiert ist, die dem Rest R^2 korrespondierende Carbonsäure $R^4\text{COOH}$ keine hydrophobe aromatische Carbonsäure.

Für die bei der Definition der Reste eingangs erwähnten Bedeutungen kommen beispielsweise

für R^3 und R^4 Wasserstoff, die Methyl-, Ethyl-, Propyl-, n-Butyl-, tert-Butyl-, Pentyl-, Hexyl-, Heptyl-, Octyl-, Nonyl-, Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Heneicosyl-, Vinyl-, 1-Propenyl-, 2-Propenyl-, 2-Butenyl-, 8-Pentadecenyl-, 8-Heptadecenyl-, Z,Z-8,11-Heptadecadienyl-, Z,Z,Z-8,11,14-Heptadecatrienyl-, 4,7,10,13,16-Nonadecapentaenyl-, 3,6,9,12,15,18-Heneicosaheptaenyl-, Phenyl-, Phenylmethyl-, Phenylethyl-, Phenylpropyl-, Phenylbutyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylmethyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylethyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylpropyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylbutyl-, 3,4,5-Trihydroxyphenyl-, 3-Phenylvinyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-3-phenylvinyl-, 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-vinyl- oder 3-Pyridyl-Gruppe, wobei zusätzliche Substituenten wie z. B. ein Halogenatom, eine Alkyl-, Hydroxy-, Alkoxy-, Phenyl-, Nitro-, Amino-,

Acetylamino- oder Carboxy-Gruppe enthalten sein können, und phenolische Hydroxygruppen als Phenolat-Salze mit Alkali- oder Erdalkalimetallen vorliegen können, in Betracht.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind somit Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I), in denen mindestens einer der beiden Reste R^1 bzw. R^2 ein Wasserstoffatom, die Benzoyl-, Phenylacetyl-, Phenylpropionyl-, Phenylbutyryl-, Phenylvaleroyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-benzoyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylacetyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylpropionyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylbutyryl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylvaleroyl-, 3,4,5-Trihydroxybenzoyl-, 3-Phenylacryloyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-3-phenylacryloyl- oder 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-acryloyl-Gruppe bedeutet.

Bevorzugte Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I) sind solche, in denen $n = 1$ ist und R^1 Wasserstoff bedeutet.

Für den Rest Z in der allgemeinen Formel (I) kommen beispielsweise Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose, Fructose, wobei die natürlich vorkommenden Stereoisomere der Zucker bevorzugt sind, sowie die aus diesen zusammengesetzten Di-, Oligo- und Polysaccharide in Betracht.

Bevorzugte Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I) sind solche, in denen Z für D-Glucose steht.

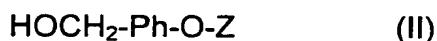
Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen können beispielsweise grundsätzlich alle in der Literatur beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Carbonsäureestern eingesetzt werden (vgl. C. Ferri, Reaktionen der organischen Synthese, Thieme-Verlag, Stuttgart 1978), vorzugsweise jedoch Veresterungen, Umesterungen sowie Acylierungen mit aktivierten Carbonsäurederivaten.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist demnach ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen (I), das dadurch gekennzeichnet ist, daß

eine alkoholische Komponente mit einer Carbonsäure, einem Carbonsäureester oder einem aktivierten Carbonsäurederivat in Gegenwart geeigneter Katalysatoren verestert oder umgeestert wird.

Unter einem aktivierten Carbonsäurederivat ist beispielsweise ein Carbonsäurechlorid oder Carbonsäureanhydrid zu verstehen, welches unter Schotten-Baumann-Bedingungen mit einer Alkoholkomponente zu einem Ester umgesetzt werden kann.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann beispielsweise erfolgen durch Veresterung eines Alkohols der Struktur



mit einer Carbonsäure R^3COOH und/oder R^4COOH , wobei im Falle der Veresterung mit beiden Carbonsäuren die Veresterung in einem Schritt oder auch in zwei aufeinanderfolgenden Schritten erfolgen kann, und wobei Ph, Z, R^3 und R^4 die Bedeutungen haben wie vorstehend für Formel (I) beschrieben.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann weiterhin erfolgen durch Umesterung eines Alkohols der Struktur (II) mit Carbonsäureestern R^3COOR^5 und/oder R^4COOR^5 , wobei R^5 eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeutet und wobei im Falle der Umesterung mit beiden Carbonsäureestern die Umesterung in einem Schritt oder auch in zwei aufeinanderfolgenden Schritten erfolgen kann, und wobei Ph, Z, R^3 und R^4 die Bedeutungen haben wie vorstehend für Formel (I) beschrieben.

Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen nach den üblichen Methoden der chemischen Synthese kommt es wegen der Anwesenheit mehrerer frei vorliegender Hydroxylgruppen in der alkoholischen Komponente (II) oder einem Partialester hiervon in der Regel zur Bildung von Gemischen aus einfach

und mehrfach substituierten Produkten, so daß die Einführung und Entfernung von Schutzgruppen notwendig ist, wenn man gezielt eine bestimmte Verbindung synthetisieren will.

Durch den Einsatz aktivierter Carbonsäurederivate entstehen Beiprodukte und häufig auch unerwünschte Nebenprodukte, welche die Aufarbeitung erschweren, die Ausbeuten an gewünschtem Produkt vermindern und die Umwelt belasten. Diese Nachteile können vermieden oder zumindest vermindert werden, indem die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen auf enzymatischem Weg (z. B. in Anlehnung in das in der deutschen Anmeldung DE 197 53 789.8 beschriebene Verfahren) oder durch Biotransformationen mit Pflanzenzellkulturen erfolgt (M. Ushiyama, S. Kumagai und T. Furuya, *Phytochemistry* 28, 3335 (1989)).

Gegenstand der Erfindung ist demnach weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen (I), das dadurch gekennzeichnet ist, daß eine alkoholische Komponente mit einer Carbonsäure oder einem Carbonsäureester mit einem oder mehreren Enzymen als Katalysatoren verestert oder umgeestert wird.

Geeignete enzymatische Verfahren zur Veresterung oder Umesterung sind beispielsweise beschrieben in K. Drauz und H. Waldmann, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, VCH-Verlag, Weinheim 1975.

Die erfindungsgemäßen Salicylalkoholderivate weisen wertvolle biologische Aktivitäten auf, wie z. B. antiinflammatorische, antipyretische, antiphlogistische oder analgetische Wirkungen. So läßt sich beispielsweise gegenüber literaturbekannten Verbindungen wie dem Salicin mit den erfindungsgemäßen Verbindungen eine stärkere Inhibition der Prostaglandinsynthese erzielen, was mit der höheren Lipophilie dieser Verbindungen in Zusammenhang gebracht wird. Voraussetzung für die bessere Wirkung ist u.a. eine effiziente Absorption durch die Zellmembranen der Keratinocyten. Die Lipidlöslichkeit glykosidischer Verbindungen ergibt sich aus dem Verhältnis von hydrophilem und hydrophobem Anteil, das durch den HLB-Wert beschrieben wird. Salicin ist mit einem HLB-Wert

von ca. 12 eher als ein wasserlösliches, Salicinester mit Werten von teilweise deutlich unter 10 sind dagegen eher als fettlösliche Moleküle einzuordnen. Dadurch wird der Transport über die Zellmembranen gegenüber Salicin deutlich verbessert, und gegenüber herkömmlichen Wirkstoffen, die in der Regel erst bei subkutaner Applikation eine ausreichende Wirkung entfalten, eine kutane Applikation erleichtert bzw. erst ermöglicht.

Der Carbonsäureteil der erfindungsgemäßen Salicylalkoholderivate kann von einer Carbonsäure $R^3\text{COOH}$ und/oder $R^4\text{COOH}$ gebildet werden, die selbst eine intrinsische biologische Aktivität aufweist, wie z. B. der als fungistatisch bekannten Sorbinsäure. Auf diese Weise sind Salicylalkoholderivate erhältlich, die neben einer antiinflammatorischen, antipyretischen, antiphlogistischen und analgetischen Wirkung überdies weitere biologische Wirkungen aufweisen, wie z. B. antioxidative, hautaufhellende, antibakterielle, antivirale bzw. fungistatische Effekte.

Darüber hinaus sind die erfindungsgemäßen Verbindungen besonders gut in lipophile Basisrezepturen einarbeitbar und lassen sich auf einfache Weise als stabile Emulsionen formulieren.

Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen verwendet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind somit kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen mit einem Gehalt an den erfindungsgemäßen Salicylalkoholderivaten (I).

Die unter erfindungsgemäßer Verwendung der Verbindungen (I) erhältlichen kosmetischen Zubereitungen, wie beispielsweise Haarshampoos, Haarlotionen, Schaumbäder, Duschbäder, Cremes, Gele, Lotionen, alkoholische und wässrig/alkoholische Lösungen, Emulsionen, Wachs/Fett-Massen, Stiftpräparate, Puder oder Salben, können ferner als weitere Hilfs- und Zusatzstoffe milde

Tenside, Ölkörper, Emulgatoren, Überfettungsmittel, Perlglanzwachse, Konsistenzgeber, Verdickungsmittel, Polymere, Siliconverbindungen, Fette, Wachse, Stabilisatoren, biogene Wirkstoffe, Deowirkstoffe, Antischuppenmittel, Filmbildner, Quellmittel, UV-Lichtschutzfaktoren, Antioxidantien, Hydrotrope, Konservierungsmittel, Insektenrepellentien, Selbstbräuner, Solubilisatoren, Parfümöle, Farbstoffe, keimhemmende Mittel und dergleichen enthalten.

Die Einsatzmenge der erfindungsgemäßen Verbindungen in kosmetischen Zubereitungen liegt üblicherweise im Bereich von 0,01 bis 5 Gew.-%, vorzugsweise jedoch von 0,1 bis 1 Gew.-%, bezogen auf die Zubereitungen.

Zur Herstellung pharmazeutischer oder auch kosmetischer Zubereitungen lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I), gegebenenfalls in Kombination mit anderen Wirksubstanzen, zusammen mit einem oder mehreren inerten üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln, z. B. mit Maisstärke, Milchzucker, Rohrzucker, mikrokristalliner Cellulose, Magnesiumstearat, Polyvinylpyrrolidon, Zitronensäure, Weinsäure, Wasser, Wasser / Ethanol, Wasser / Glycerin, Wasser / Sorbit, Wasser / Polyethylenglykol, Propylenglykol, Carboxymethylcellulose oder fetthaltigen Substanzen wie Hartfett oder deren geeigneten Gemischen, in übliche galenische Zubereitungen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, Pulver, Suspensionen, Tropfen, Ampullen, Säfte oder Zäpfchen einarbeiten.

Die zur Erzielung einer entsprechenden Wirkung bei pharmazeutischen Anwendungen erforderliche tägliche Dosierung beträgt zweckmäßigerweise 0,1 bis 10 mg / kg Körpergewicht, vorzugsweise 0,5 bis 2 mg / kg Körpergewicht.

Beispiele

Beispiel 1: 6-O-Phenylpropionyl-[2-(Hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid

5 mmol D(-)-Salicin [2-(Hydroxymethyl)phenyl- β -D-glucopyranosid], 7.5 mmol Phenylpropionsäure, 4 g Molekularsieb, 4 ml t-Butanol und 2.5 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 34 Stunden bei 60 °C im rotierenden 50 ml Rundkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 65/15/2 v/v/v; Visualisierung: UV-Detektion sowie mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd (100:2:1 v/v/v)-Tauchreagenz) nachgewiesen. Das Produkt wurde mit 20 ml Dichlormethan extrahiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10/1 v/v) gereinigt. Nach Reinigung betrug die Ausbeute 32 % (weißer Feststoff).

^{13}C -NMR (CD_3OD): $\delta(\text{ppm}) = 30.9$ (C-2), 38.7 (C-3), 61.6 (C-7*), 65.2 (C-6'), 72.2 (C-4'), 75.6 (C-2'), 76.1 (C-5'), 78.4 (C-3'), 103.7 (C-1'), 117.6 (C-6*), 124.5 (C-4*), 127.6 (C-7), 130.1 – 131.0 (C-3*, C-5*, C-5, C-6, C-8, C-9), 132.8 (C-2*), 143.4 (C-4), 157.5 (C-1*), 175.2 (C'=O).

Beispiel 2: 6-O-p-OH-Phenylacetyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid:

5 mmol D(-)-Salicin [2-(Hydroxymethyl)phenyl- β -D-glucopyranosid], 7.5 mmol p-OH-Phenylelessigsäure, 4 g Molekularsieb, 4 ml t-Butanol und 2.5 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 34 Stunden bei 60 °C im rotierenden 50 ml Rundkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 65/15/2 v/v/v; Visualisierung: UV-Detektion sowie mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd (100:2:1 v/v/v)-Tauchreagenz) nachgewiesen. Das Produkt wurde mit 20 ml Dichlormethan extrahiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10/1 v/v) gereinigt. Nach Reinigung betrug die Ausbeute 17 % (weißer Feststoff).

^{13}C -NMR (CD_3OD): $\delta(\text{ppm}) = 41.8$ (C-2), 61.0 (C-7*), 65.0 (C-6'), 71.5 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.4 (C-5'), 77.8 (C-3'), 103.2 (C-1'), 117.1 (C-6*), 123.9 (C-4*), 129.4

- 132.3 (C-2*, C-3*, C-5*; C-4, C-5, C-7, C-8), 136.1 (C-3), 156.0 – 159.2 (C-1*, C-6), 173.31 (C=O).

In analoger Weise wie in Beispiel 1 wurden erhalten:

Beispiel 3: p-Chloro-Phenylacetyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 41.2 (C-2), 61.0 (C-7*), 65.1 (C-6'), 71.4 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.2 (C-5'), 77.8 (C-3'), 103.1 (C-1'), 117.7 (C-6*), 123.9 (C-4*), 129.5 – 132.0 (C-3 – C-5, C-7, C-8, C-2*, C-3*, C-5*), 134.2 (C-6), 156.2 (C-1*), 173.0 (C'=O).

Beispiel 4: 6-O-Cinnamoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 61.0 (C-7*), 64.9 (C-6'), 71.8 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.4 (C-5'), 77.9 (C-3'), 103.7 (C-1'), 117.1 (C-6*), 118.6 (C-2), 123.8 (C-4*), 129.1 – 131.6 (C-5 bis C-9, C-2*, C-3*, C-5*), 135.6 (C-4), 146.5 (C-3), 156.2 (C-1*), 168.3 (C'=O).

Beispiel 5: 6-O-Oleoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 14.4 (C-18), 23.6 (C-17), 23.7 – 35.1 (C-11 bis C-16, C2 bis C-8), 60.9 (C-7*), 64.7 (C-6'), 71.7 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 103.6 (C-1'), 117.1 (C-6*), 123.1 (C-4*), 129.0 – 132.8 (C-9, C-10, C-2*, C-3*, C-5*), 156.2 (C-1*), 175.5 (C'=O).

Beispiel 6: 6-O-Palmitoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid

5 mmol D-(-)-Salicin [2-(Hydroxymethyl)phenyl- β -D-glucopyranosid] und 5 mmol Palmitinsäuremethylester in 50 ml Aceton wurden in einem 2-Halskolben mit aufgesetztem Soxhlet-Extraktor (der mit aktiviertem Molekularsieb befüllt war) mit 0,5 mg immobilisierter *Candida antartica* B Lipase (SP 435, Hersteller Novo Nordisk) versetzt und unter Rühren (Magnetrührer, 200 UpM) und reduziertem Druck 48 h auf 40 °C erhitzt. Der Reaktionsfortgang wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach Reaktionsende wurden 14 g warmen (ca. 50 °C) Acetons zugegeben und das Gemisch wurde bei 50 °C filtriert. Das Filtrat wurde auf -10 °C

abgekühlt und das dabei ausfallende Produkt wurde durch Filtration in einer Ausbeute von 53 % isoliert.

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 14,47 (C-16), 23,74 (C-15), 26,00 (C-3), 30,22 - 30,80 (C-4 - C-13), 33,08 (C-14), 35,03 (C-2), 60,98 (C-7*), 64,59 (C-6'), 71,64 (C-4'), 74,96 (C-2'), 75,49 (C-5'), 77,82 (C-3'), 103,22 (C-1'), 117,07 (C-6*), 123,82 (C-4*), 129,78 - 132,34 (C-2*, C-3*, C-5*), 156,98 (C-1'), 175,23 (C=O). Anal. berechnet für $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_8$ (524,69): C, 66,39; H, 9,22. Gefunden: C, 67,88; H, 9,41.

Beispiele 7 bis 9: Herstellung weiterer Salicin-Ester durch Umesterung:

In Analogie zu dem in Beispiel 6 beschriebenen Verfahren wurde Salicin ([2-(Hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid) mit verschiedenen Carbonsäuremethylestern umgesetzt und die in der nachfolgenden Tabelle angegebenen selektiv an der primären Alkoholfunktion der Glucoseeinheit veresterten Salicine erhalten.

Verbindung	Reaktionstemperatur	Reaktionszeit	Ausbeute
Salicinstearat (Beispiel 7)	40 °C	24 h	67 %
Salicinmyristat (Beispiel 8)	35 °C	48 h	29 %
Salicinphenylacetat (Beispiel 9)	35 °C	48 h	32 %

Die so hergestellten Salicin-Ester wurden NMR-spektroskopisch charakterisiert; das Spektrum von Beispiel 9 ist beispielhaft angegeben:

6-O-Phenylacetyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- β -D-glucopyranosid (Beispiel 9)

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 41,82 (C-2), 60,99 (C-7*), 65,03 (C-6'), 71,52 (C-4'), 74,94 (C-2'), 75,49 (C-5'), 77,77 (C-3'), 103,21 (C-1'), 117,11 (C-6*), 123,91 (C-4*), 127,89 (C-6), 129,46 - 132,37 (C-2*, C-3*, C-5*; C-4, C-5, C-7, C-8), 136,12 (C-3), 156,95 (C-1*), 173,31 (C=O). Anal. berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_8$ (404,41): C, 62,38; H, 5,98. gefunden: C, 63,96; H, 5,90.

Beispiel 10: Cytotoxizität (in Maus- oder humanen Haut-Keratinocyten, MSCP 5 bzw. HPK II)

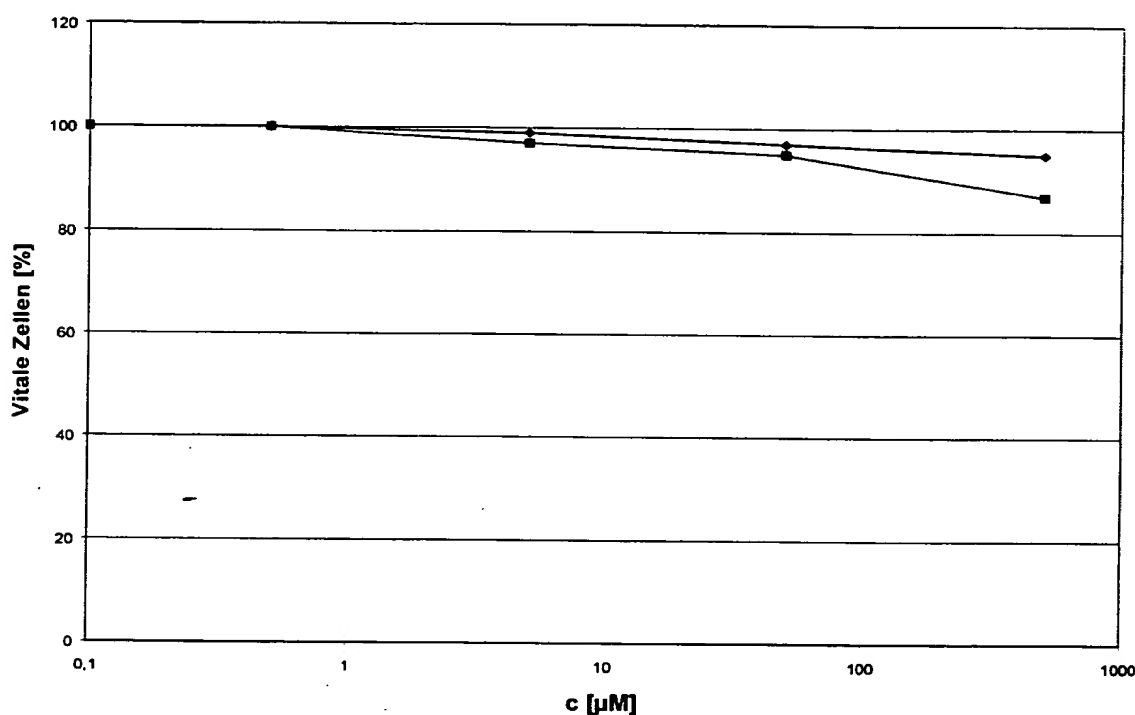


Abbildung 1 Der Einfluß von Phenylpropionyl-Salicin (untere Kurve) und p-OH-Phenylacetyl-Salicin (obere Kurve) auf die Vitalität von Hautzellen (Keratinocyten) war sehr gering. Die Substanzen wurden im Kulturmedium gelöst und 20 h mit den Zellen inkubiert. Der MTT-Reduktionstest wurde anschließend mit frischem Medium ohne Testkomponenten durchgeführt.

Die Toxizität der vorliegenden Substanzen wurde mittels MTT-Test (Mosmann 1983) in Zellkulturen untersucht. Dieser Test basiert auf der Umwandlung des

gelben Tetrazoliumsalzes MTT in den violetten Farbstoff Formazan. Die Reaktion findet nur in lebenden Zellen durch die in der inneren Mitochondrienmembran lokalisierte Succinat-Dehydrogenase statt. Wegen des möglichen Einsatzes in Kosmetik- oder Pharmaprodukten wurden Hautzellen (menschliche HPKII- bzw. Maus MSCP5- Keratinocyten) als Testsystem benutzt. Die getesteten Substanzen (Phenylpropionyl-Salicin und p-OH-Phenylacetyl-Salicin) waren in Konzentrationen, bei denen sie biologische Wirksamkeit zeigten (Hemmung der Prostaglandinsynthese), für die Zellen nicht toxisch. Der Effekt der Substanzen auf die Keratinocyten war unabhängig von der Zeit (1.5 oder 20 h Inkubationszeit), des Wachstumszustandes (konfluent oder subkonfluent) und des Organismus (Maus oder Mensch).

Beispiel 11: Hemmung der Prostaglandinsynthese durch Salicinderivate (in Maus oder humanen Haut-Keratinocyten, MSCP 5 bzw. HPK II)

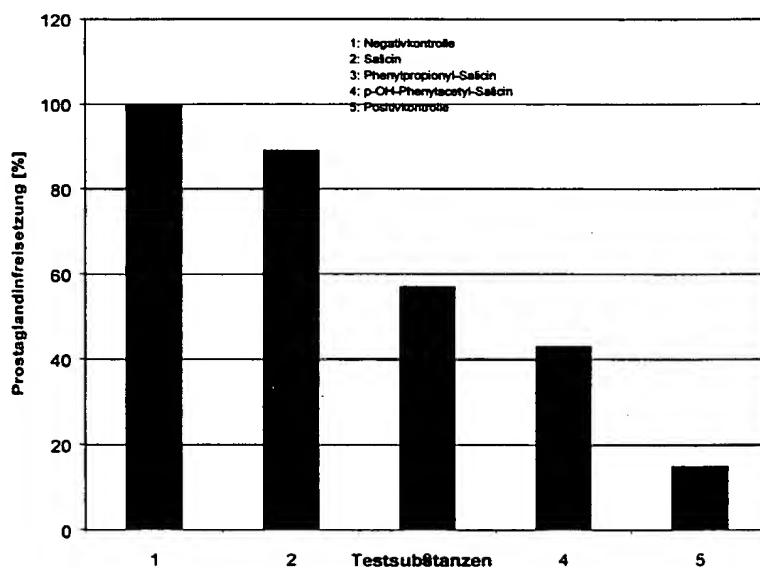


Abbildung 2 Effekte von Salicin und Salicinestern auf die Prostaglandinfreisetzung in

Keratinocyten. Die Zellen wurden mit $0.2 \mu\text{Ci } ^{14}\text{C-Arachidonsäure ml}^{-1}$ Medium für 16 Stunden markiert. Die Testsubstanzen wurden in frischem Medium mit

ansteigender Konzentration zugegeben und 2 Stunden inkubiert. In der Positivkontrolle NS398 (10 μ M) bei MSCP5 Zellen ist die Prostaglandinsynthese um 85 % reduziert. Die Prostaglandine wurden im Vergleich zu Referenzsubstanzen identifiziert und radiodensitometrisch quantifiziert. Angegeben ist jeweils der Mittelwert aus drei Meßpunkten. MSCP 5: 100 % = 201 cpm; HPK II: 100 % = 63 cpm.

Beispiel 12: Beeinflussung der Transkriptionsaktivität von HPK II (humane Haut-Keratinocyten)

Die Prostaglandinfreisetzung kann auf mehreren Ebenen durch Inhibitoren beeinflußt werden. Neben der Inhibierung der katalytischen Aktivität der Prostaglandin-Synthase-Proteine ist ein Effekt bereits auf die messenger RNA der Cyclooxygenasen denkbar. In *Northern Blot*-Analysen zeigte sich, daß bei Inkubation von MSCP 5 Zellen mit 500 μ M p-OH-Phenylacetyl-Salicin für 45 Minuten die COX-2-mRNA-*steady state*-Konzentration im Vergleich zu unbehandelten Zellen stark verringert ist.

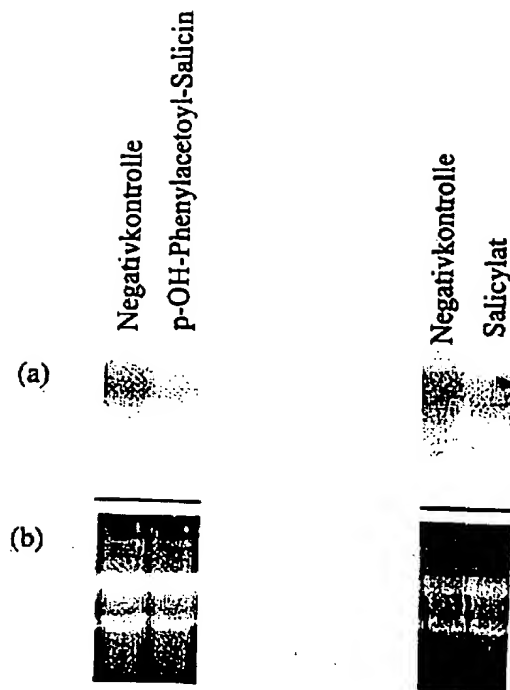
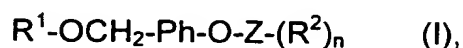


Abbildung 3 (a) Effekt von p-OH-Phenylacetyl-Salicin und Salicylsäure auf die COX-2-mRNA-*steady state*-Konzentration in subkonfluenten MSCP 5 Zellen. Die Substanzen wurden in frischem Medium in Konzentrationen von 500 μ M zugegeben. Als negative Kontrolle wurden die Zellen in Medium ohne Testsubstanz nur mit dem Lösungsvermittler Aceton (0.25% v/v) 45 Minuten inkubiert. (b) Die aufgetragenen RNA-Konzentrationen waren identisch.

Pat ntsprüche

1. Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I)



worin

R^1 für ein Wasserstoffatom oder einen Rest $C(O)R^3$ steht,

wobei R^3 einen Alkyl-, Cycloalkyl-, Cycloalkylalkyl-, Aralkyl-, oder Arylrest mit 1 bis 26 C-Atomen und/oder 1-10 Heteroatomen, der unverzweigt oder verzweigt, einfach oder mehrfach ungesättigt sein und/oder Substituenten am Kohlenstoffgerüst und/oder den Heteroatomen tragen kann, bedeutet,

Ph steht für den 1,2-Phenylene- rest,

Z einen an den aromatischen Rest Ph in (I) halbacetalisch gebundenen, gegebenenfalls n-fach mit R^2 esterartig substituierten Zucker darstellt, wobei der Zucker ein Mono-, Di-, Oligo- oder Polysaccharid sein kann,

n eine ganze Zahl zwischen 0 und m ist, wobei m gleich der Anzahl der im halbacetalisch an den aromatischen Rest gebundenen Zucker Z vorhandenen freien Hydroxygruppen ist,

R^2 für ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe $C(O)R^4$ steht, wobei R^4 aus der gleichen Gruppe ausgewählt ist wie R^3 , und wobei R^1 und R^2 gleich oder verschieden sein können mit der Maßgabe, daß höchstens einer der beiden Reste R^1 oder R^2 Wasserstoff bedeutet, wenn $Z = \text{Glucose}$ ist,

und mit den Einschränkungen,

daß im Falle, daß Z Glucose und R^2 Wasserstoff bedeuten, der Rest R^1 weder Acetyl noch Benzoyl noch (1-Hydroxy-6-oxo-2-cyclohexen-1-yl)carbonyl bedeuten kann,

und im Falle, daß R^1 Wasserstoff, Z Glucose und $n = 1$ bedeuten und der Glucoserest an seiner primären Hydroxygruppe mit R^2 substituiert ist, der Rest R^2 nicht 4-Phenyl-butyryl bedeuten kann.

2. Salicylalkoholderivate nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer der beiden Reste R^1 bzw. R^2 ein Wasserstoffatom, die

Benzoyl-, Phenylacetyl-, Phenylpropionyl-, Phenylbutyryl-, Phenylvaleroyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-benzoyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylacetyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylpropionyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylbutyryl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylvaleroyl-, 3,4,5-Trihydroxybenzoyl-, 3-Phenylacryloyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-3-phenylacryloyl- oder 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-acryloyl-Gruppe bedeutet.

3. Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß $n = 1$ ist und R^1 Wasserstoff bedeutet.
4. Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß Z ein Monosaccharid bedeutet ausgewählt aus Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose und Fructose, wobei die natürlich vorkommenden Stereoisomere der Zucker bevorzugt sind.
5. Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß Z für D-Glucose steht.
6. Salicylalkoholderivate nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für den Fall, daß R^1 Wasserstoff, Z Glucose und $n = 1$ bedeuten und die Glucose an ihrer primären Hydroxygruppe mit $R^2 = C(O)R^4$ substituiert ist, R^4COOH keine hydrophobe aromatische Carbonsäure bedeutet.
7. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß eine alkoholische Komponente mit einer Carbonsäure, einem Carbonsäureester oder einem aktivierten Carbonsäurederivat in Gegenwart geeigneter Katalysatoren verestert oder umgeestert wird.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung durch eine enzymatisch katalysierte Veresterung oder Umesterung erfolgt.

9. Verwendung der Verbindungen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen.
10. Kosmetische Zubereitungen, dadurch gekennzeichnet, daß sie Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 enthalten.
11. Pharmazeutische Zubereitungen, dadurch gekennzeichnet, daß sie Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 enthalten.

Zusammenfassung

Neue Salicylalkohol-Derivate

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Salicylalkohol-Derivate, die wertvolle biologische Aktivitäten aufweisen, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung in Kosmetik und Pharmazie.

THIS PAGE BLANK (USPTO)